ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 N° 67

Les Antihormones Gonadotropes chez la Jument

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en juin 1972

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

TRAVERT Michel, Gustave, Arsène, Léon

Né le 15 mai 1944 à Reville (Manche)

JURY :

Président : *M. PONTONNIER, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

Assesseurs { *M. BERTHELON, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*
M. RUCKEBUSCH, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Imp. Denis LONG
18, rue des Trois-Piliers
TOULOUSE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549602_0053

Les Antihormones Gonadotropes chez la Jument

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 N° 67

Les Antihormones Gonadotropes chez la Jument

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement en juin 1972

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

TRAVERT Michel, Gustave, Arsène, Léon

Né le 15 mai 1944 à Reville (Manche)

JURY :

Président : *M. PONTONNIER, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

Assesseurs { *M. BERTHELON, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*
M. RUCKEBUSCH, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Imp. Denis LONG
18, rue des Trois-Piliers
TOULOUSE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur. . . . . M **Florio.**
Directeurs honoraires. . . . . MM. **Pons, Darraspen**
Professeur honoraire . . . . . M. Lombard

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie-Toxicologie.

Professeur titulaire. . . . . M. **Godfrain**
Maître-Assistant. . . . . Mme **Burgat-Sacaze**
Pharmacie - Toxicologie

Chaire de Physique - Chimie Biologiques et Médicales.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Rico**
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.

Professeur titulaire. . . . . M. **Pavaux**
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie Appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie - Thérapeutique.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Ruckebusch**
Maître de Conférence
non Chef de Service. . . . . **Fargeas**
Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Van Haverbeke**
Maître de Conférence
non Chef de Service
Professeur sans Chaire. . . . . **Cabanié,**
Maître-Assistant. . . . . **Magnol**
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Labie**
Maître-Assistant. . . . . **Eeckhoutte**
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Brizard**
Maître-Assistant agrégé. . . . . **Dorchies**
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Florio**
Professeur sans Chaire. . . . . **Lescure**
Maître-Assistant. . . . . **Guelfi**
Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés
et des Carnivores - Législation Vétérinaire
et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de basse-cour.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Tournut**
Professeur sans Chaire. . . . . **Espinasse,**
Maître-Assistant. . . . . **Bézille**
Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.

Professeur titulaire. . . . . M. **Cazieux**
Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Berthelon**
Professeur sans Chaire. . . . . **Hoyal**
Sémiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Saurat**
Maître-Assistant agrégé . . . . . **Chantal**
Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation sanitaire

Chaire de Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie.

Professeur titulaire. . . . . M. **Lautié**
Maître-Assistant. . . . . **Meignier**
Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie

Chaire de Zootechnie et d'Economie rurale.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Quennec**
Maître-Assistant. . . . . **Darre**
Ethnologie - Génétique Appliquée - Hygiène Générale
Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Faliu**
Maître de Conférence
non Chef de Service. . . . . **Griess**
Botanique Appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses. . . . . MM. **Monnier**
Aspect médical des Zoonoses. . . . . **Armengaud**
Energétique. . . . . **Labouche**
Initiation à l'informatique biomédicale. . . . . **Fernet**
Agronomie . . . . . **Combret**
Métabolismes. . . . . **Raynaud**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924.)

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MA FILLE

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. PONTONNIER

de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Qui nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.

Hommage très respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. BERTHELON

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Pour l'accueil qu'il nous a toujours réservé.

Qu'il trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance pour l'enseignement qu'il nous a dispensé et la mise à notre disposition de tous les moyens qui ont permis la réalisation de cette thèse.

MONSIEUR LE PROFESSEUR Y. RUCKEBUSCH

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Nous le remercions pour l'honneur qu'il nous a fait d'avoir bien voulu juger notre travail.

Hommage respectueux.

A TOUS LES MEMBRES

DU LABORATOIRE

DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

PLAN

Introduction.

Chapitre premier. — Hormones gonadotropes.

Hormones gonadotropes hypophysaires.

A. Hormone de stimulation folliculaire.

B. Hormone de stimulation des cellules interstitielles.

C. Hormone lutéotrophique.

D. Origine hypophysaire de ces hormones.

La gonadotrophine sérique.

— Apparition - Persistance.

— Origine.

— Propriétés.

— Evaluation d'activité.

— Extraction - Purification - Structure.

La gonadotrophine chorionique.

— Apparition - Origine - Extraction.

— Propriétés physico-chimiques.

— Propriétés biologiques et physiologiques.

— Standard International.

Chapitre II. — Méthodes d'étude et caractères généraux des antihormones.

Moyens d'étude des antigonadotrophines.

— Méthodes biologiques.
— Méthodes séroimmunologiques.
— Méthodes radioimmunologiques.

Notions générales d'antigonadotrophines.
Sérums progonadotrophiques.

Chapitre III. — Recherches personnelles.

Antihormone contre la gonadotrophine chorionique.

— Caractéristiques de l'antigène.
— Immunisations.
— Résultats.
- Utilisation d'une méthode biologique.
- Utilisation d'un test séroimmunologique.

Antihormone contre les extraits d'ante-hypophyse.

— Caractéristiques de l'extrait A.P.G.
— Immunisations.
— Résultats.
- Utilisation d'une méthode biologique.
- Utilisation d'un test séroimmunologique.

Conclusion.

Bibliographie.

INTRODUCTION

Avec les progrès de l'endocrinologie, le contrôle que les hormones gonadotropes exercent sur les gonades a été clarifié et les gonadotrophines commercialisées sont largement utilisées pour stimuler les gonades et traiter un dysfonctionnement de l'ovaire ou du testicule chez l'animal domestique.

Cependant, il a été confirmé que lorsqu'une gonadotrophine est administrée de façon répétée au même animal, la réponse de la gonade à l'hormone décroît graduellement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de réponse du tout. Ce déclin dans la réponse est considéré comme étant dû à la production d'antihormone contre la gonadotrophine exogène dans le sang de l'animal. L'antihormone inactive l'hormone de même type, ce qui constitue un problème dans l'utilisation des gonadotrophines.

La substance inhibitrice qui est produite dans le sang à la suite d'injections répétées d'hormones a été appelée « antihormone » par Collip et Anderson [24]. L'existence d'une telle substance fut d'abord reconnue et prouvée avec l'hormone thyréotrope [23]. Après quoi, la production d'antihormone fut confirmée pour un grand nombre d'hormones, telles que les hormones de l'antehypophyse comme l'hormone de stimulation folliculaire F.S.H., l'hormone de lutéinisation L.H., la prolactine.

l'hormone de croissance et l'adrénocorticotrophine; telles que, à un moindre degré, les hormones de la posthypophyse comme la vasopressine et l'ocytocine; telles que l'insuline pancréatique, l'hormone parathyroïdienne et plusieurs autres hormones protéiques telles le sérum de jument gravide P.M.S.G. ou P.M.S. et la gonadotrophine chorionique humaine H.C.G. [44].

Après un rappel des hormones gonadotropes et de leurs propriétés, nous relaterons les moyens d'étude et les propriétés des anticorps antihormones; enfin, nous présenterons les résultats de nos recherches personnelles sur la capacité de la jument à former des antihormones.

CHAPITRE PREMIER

HORMONES GONADOTROPES

Les hormones gonadotropes (gonadotrophines, ou gonadotropines ou encore gonadostimulines) sont élaborées par le placenta et par le lobe antérieur de l'hypophyse. Le placenta est à l'origine des gonadotrophines sériques; le lobe antérieur de l'hypophyse à l'origine des gonadotrophines hypophysaires. Ces hormones gonadotropes sont contrôlées par l'hypothalamus et commandent le fonctionnement de l'appareil génital femelle; leur rôle sur l'appareil génital mâle est moins bien défini.

Chez la jument, leur rôle physiologique est encore imprécis, bien qu'on ait pu recueillir quelques faits expérimentaux sur cette espèce. Par contre, chez d'autres animaux (rat, souris, lapine, cobaye), les renseignements plus commodes à obtenir, furent plus nombreux et plus importants.

C'est à partir des résultats obtenus sur ces animaux d'expérience qu'on a pu élaborer une base de la physiologie des autres espèces à propos des gonadotrophines. Les indications ainsi obtenues sur la physiologie endocrinienne de l'hypophyse, les relations avec l'hypo-

thalamus, la nature chimique des gonadotrophines et leur mode d'action, sont très précieuses. Cependant, appliquer ces conclusions à l'espèce équine exige les restrictions qu'entraîne toute extrapolation.

Ces données, pour être plus complètes, demandent à être confrontées avec des faits cliniques et des renseignements directs recueillis sur la jument.

LES HORMONES GONADOTROPES HYPOPHYSAIRES

Il est généralement admis que l'antehypophyse possède trois effets différents : effet gaméto-cinétique, endocrino-sexo-cinétique et effet lutéotrophique.

A. Hormone de stimulation folliculaire

F.S.H. (Follicle Stimulating Hormone), appelée aussi gonadotrophine A ou prolan A, est un facteur de stimulation germinale : spermatogenèse et maturation folliculaire. Son effet est apprécié sur l'aspect histologique de l'ovaire de rate hypophysectomisée. L'injection de F.S.H. fait apparaître des follicules non atrésiques et leur développement. Mais F.S.H. seule ne peut produire l'ovulation.

La synthèse chimique de F.S.H. n'a jamais été réalisée; cependant, de nombreux auteurs l'ont obtenue sous une forme très purifiée [47]; c'est une glycoprotéine dont le PM a été évalué à 30 000.

B. Hormone de stimulation des cellules interstitielles

I.C.S.H. (Interstitial Cell Stimulating Hormone), est actuellement assimilée à L.H. (Luteinizing Hormone).

parfois appelée gonadotrophine B ou prolan B. Elle agit soit sur l'élaboration de la testostérone, soit sur l'élaboration de l'œstradiol.

Chez la femelle non gravide, F.S.H. favorise la maturation du follicule de Graaf et I.C.S.H. (L.H.), provoque sa rupture et le développement du corps jaune. F.S.H. provoque la sécrétion des œstrogènes par la thèque interne, mais ne fait pas sécréter la progestérone par le corps jaune.

Les critères de pureté sont nettement mieux définis que pour F.S.H. [17] : c'est également une glycoprotéine, de PM 40 000.

C. Hormone lutéotrophique

L.T.H. (Luteotrophic Hormone), encore appelée prolactine, a un effet lutéotrophique en rapport avec le développement et le fonctionnement du tissu lutéinique : c'est-à-dire avec l'élaboration de son hormone spécifique : la progestérone.

Elle maintient en activité les corps jaunes et leur fait sécréter la progestérone.

Chez le mâle, L.T.H. contribuerait au développement des vésicules séminales, sous réserve que la testostérone ait, au préalable, exercé son action.

L.T.H. provoque chez la rate la transformation du corps jaune cyclique en corps jaune gestatif élaborant la progestérone. Elle provoque aussi la croissance du tissu mammaire et la sécrétion de lait.

L.T.H. est une holoprotéine de PM 32 000; à la différence des autres hormones gonadotropes qui sont des glycoprotéines.

D. Origine hypophysaire de ces hormones gonadotropes

Arguments et observations

Cette origine hypophysaire est actuellement admise et mise en évidence par :

a) Des observations cliniques;

b) L'étude des effets de l'hypophysectomie;

c) L'étude des effets des extraits hypophysaires.

a) Les cliniciens mettent en évidence une étroite liaison entre certaines malformations hypophysaires et certains désordres génitaux.

Observation de Pierre Marie en 1886, syndrome adiposo-génital de Babinsky découvert en 1900, retrouvé par Luksen en 1923 chez un chien atteint de tumeur de l'hypophyse.

b) L'hypophysectomie réalisée sur les animaux de laboratoire fait conserver à l'animal impubère son apparence infantile, gonades non développées, pas de caractères sexuels secondaires. Chez l'adulte, elle détermine une régression de l'ensemble du tractus génital.

c) L'administration d'extraits hypophysaires entraîne une apparition précoce de la puberté (Zondek). Ces mêmes extraits sur un rat adulte déjà hypophysectomisé entraînent la reprise d'activité des testicules atrophiés.

Chez la femelle, leur action est surtout prépondérante sur le développement des follicules ou sur la formation des corps jaunes.

LA GONADOTROPHINE SÉRIQUE

Les gonadotrophines sériques placentaires se retrouvent chez la jument, le singe, la femme, la rate.

Chez la jument, c'est la gonadotrophine sérique P.M.S.G. ou P.M.S. (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) ; chez la femme, c'est la gonadotrophine chorionique H.C.G. (Human Chorionic Gonadotropin).

Ces hormones présentent des différences importantes du point de vue chimique et biologique.

H.C.G. est présente dans les urines et P.M.S. est absente, ce qui a conduit à admettre pendant longtemps que la P.M.S. est une très grosse molécule qui ne peut passer au travers des filtres rénaux.

De fait, seul le sérum de jument peut être utilisé pour mettre en évidence la gonadotrophine sérique. En réalité, il y aurait de la P.M.S. dans l'urine, mais à un taux de 1/100 à 1/600 par rapport au sang (Schmidt-Elmendorf, 1962 [63]).

Apparition de P.M.S. dans le sang, persistance

L'activité gonadotrope du sérum de jument gravide fut décrite à l'origine par Cole et Hart [17] en 1930 et la même année par Zondek [79].

La P.M.S. apparaît dans le sang de la jument pleine entre le 40e et le 45e jour de la gestation. Cela correspond à la nidation. Le taux de P.M.S. croît rapidement jusqu'au 50e jour, puis reste stable jusqu'au 100, 110e jour ; ensuite il décroît rapidement et la P.M.S. ne peut plus être détectée. Au moment correspondant au plateau maximum, le sérum contient environ 50 000 U.I. par litre.

Pour le diagnostic de la gestation chez la jument, le prélèvement sanguin a lieu à partir du 45e jour jusqu'au 100e, après la saillie supposée fécondante.

Origine de la P.M.S.

Cole et Goss, en 1943 [16], ont montré que les cupules endométriales sont à l'origine de l'hormone. Ces cupules se développent précisément au moment où la P.M.S. apparaît dans le sérum de jument pleine; leur destruction est complète lorsque la P.M.S. disparaît.

On observe aussi une corrélation entre la concentration de P.M.S. dans le sang et dans les cupules endométriales.

Catchpole et Lyons [14] ont montré que chez la jument, les propriétés gonadotropes de l'endomètre sont dix fois supérieures à celles du plasma sanguin.

Propriétés physiologiques de la P.M.S.

La P.M.S. est très active pour produire la maturation folliculaire et un certain degré de lutéinisation.

De nombreux auteurs : Hellbaum en 1937 [34], Cole et al. en 1940 et 1950 [18, 19], Diczfaluzy et Heinrichs en 1956 [26], ont montré que la P.M.S. avait les deux activités F.S.H. et L.H.

Oestergaard [54], Bourillon, Got et Marcy [6], Leclerc et Derivaux [45], lui reconnaissent un effet F.S.H. qu'ils évaluent à 67 % et un effet L.H. à 33 %.

On admet que la principale fonction physiologique de la P.M.S. est de stimuler le développement des corps jaunes secondaires durant les deuxième et troisième mois; les corps jaunes primaires ayant commencé à régresser avec la fin du premier mois de gestation [1]. Cependant, il est certain que l'hypophyse, par I.C.S.H., agit secondairement pour provoquer la lutéinisation, car la P.M.S. seule est incapable de provoquer la sécrétion de progestérone.

Les effets respectifs de la P.M.S. et de F.S.H. et I.C.S.H. ne sont pas actuellement bien individualisés.

Évaluation quantitative de l'activité de P.M.S.

Les préparations obtenues étant des produits relativement purifiés et non une hormone chimiquement pure, on ne peut utiliser des unités pondérales; on utilise donc trois unités P.M.S.

Unité Lapine : La plus petite dose d'hormone capable de faire apparaître un follicule hémorragique sur l'un des deux ovaires d'une lapine impubère.

Unité Internationale ou *Unité Rat :* définie en 1938 à Genève. Elle résulte du mélange de cinq préparations provenant de laboratoires différents. Cet étalon se présente sous forme de comprimés de 25 milligrammes. L'unité internationale U.I. étant représentée par l'activité gonadotrope spécifique de 250 γ de la préparation internationale. L'activité de cette préparation est telle que 20 U.I. injectées une fois par jour pendant 3 jours consécutifs à des rates impubères de 35 à 40 grammes et âgées de 21 jours amènent le poids des ovaires à quintupler.

Ces unités biologiques d'activité gonadotrope ne mesurent, sur l'animal d'expérience, qu'un seul des aspects du phénomène produit par la P.M.S.

Elles ne permettent pas de chiffrer l'activité totale de la gonadotrophine sérique.

Cependant, grâce à elles, on peut comparer valablement le pouvoir gonadotrope de deux ou plusieurs préparations.

Extraction - Purification
Structure chimique de P.M.S.

Les premiers essais de purification sont l'œuvre de Cole et Goss en 1931; puis Evans en 1933, Cartland et Nelson en 1937, en pratiquant des fractionnements à l'acétone, à des pH différents, obtiennent des concentrations importantes. Par des procédés de précipitation et d'action de l'acétone, Cole et Goss, en 1940, obtiennent

une préparation contenant 7 000 UI/mg, alors que Remington et Rowlands en 1944, par action d'acides et de précipitations fractionnées, obtiennent un extrait titrant 12 500 UI/mg. Enfin, Raacke et al., en 1957 [58], obtiennent par électrophorèse, un extrait doué d'une activité spécifique de 30 000 UI/mg.

Les procédés d'extraction et de purification ont évolué, mais il n'a pas été possible d'isoler l'hormone à l'état pur; et différents auteurs, Bourillon [5, 6], Legault [46], Leclerc [45], ont montré, au contraire, qu'elle est liée à des protéines transporteuses.

Mais Legault, Demare, Clauser et Justisz [46], fractionnant par distribution à contre-courant des préparations de P.M.S. titrant 10 000 à 13 000 UI/mg, isolèrent une fraction représentant 60 % des protéines initiales et possédant une activité spécifique d'environ 15 000 UI/mg; cette fraction résista à l'électrophorèse de zone, à la distribution à contre-courant, et à l'ultra-centrifugation; son activité correspondait pour 2/3 à F.S.H. et 1/3 à I.C.S.H.

Bourillon, Got et Marcy montrent que l'activité gonadotrope est localisée sur la fraction globulinique et particulièrement liée aux α_2 globulines.

Les constantes physiques de la gonadotrophine sérique sont très diverses selon les différents auteurs. L'hormone est sans doute constituée de différents agrégats moléculaires, les procédés d'isolement pouvant entraîner des dégradations des propriétés physiques, chimiques et physiologiques.

Leclerc et Derivaux pensent que la P.M.S. serait de structure glycolipoprotéique et que son pouvoir immunisant serait relativement faible; mais déjà, en 1942, Zondek et Sulman [81] avaient incriminé les impuretés protéiques (d'origine équine) comme facteur contaminant et exacerbant des préparations immunisantes.

LA GONADOTROPHINE CHORIONIQUE HUMAINE (H.C.G.)

Les gonadotrophines urinaires découvertes dans les urines de femmes enceintes ont posé d'emblée de nombreux problèmes.

Leur origine placentaire ne tarda pas à être montrée, mais leur pluralité et leur identité avec les gonadotrophines hypophysaires, en particulier I.C.S.H., furent largement controversées.

De nombreux travaux ont permis l'amélioration des méthodes d'extraction et de purification et d'obtenir ainsi des extraits très actifs employés en thérapeutique aussi bien chez le mâle que chez la femelle.

Apparition, origine et extraction de H.C.G.

La découverte d'un principe gonadotrope dans le sang et l'urine de femme enceinte est due à Asheim et Zondek [2], qui font le rapprochement avec les gonadotrophines hypophysaires. En effet, cette substance était capable de produire en quelques jours une maturité sexuelle précoce (œstrus, développement folliculaire, ovulation et lutéinisation chez les rongeurs).

Par contre, c'est Jones [36] qui montre l'origine placentaire et en apporte la preuve en montrant la sécrétion gonadotrophique, *in vitro*, par les cellules de Langhans du chorion. Le maximum d'excrétion urinaire s'étale du 35e au 55e jour de la grossesse. L'extraction se fait à partir de l'urine, en général par des techniques d'absorption.

Propriétés physico-chimiques

H.C.G. se comporte du point de vue physico-chimique comme une hormone homogène de PM 100 000, douée d'un PHi de 3,2-3,3 et stable pour un pH allant de 1.5

à 8,6; enfin, on peut noter un très fort pourcentage de méthionine.

Propriétés biologiques et physiologiques

Bien que l'origine placentaire et l'identité avec les hormones antehypophysaires aient été montrées, il existe, selon Evans et Simpson [28], des différences entre les extraits pituitaires et l'hormone chorionique : l'augmentation du poids de l'ovaire est moins importante et le nombre de follicules développés moindre avec l'hormone chorionique à doses égales.

Chez l'animal hypophysectomisé, H.C.G. ne produit pas de développement folliculaire, mais conserve son pouvoir de stimulation sur les cellules interstitielles.

Les actions de I.C.S.H. et de H.C.G. sont très voisines, mais, cependant, différentes toujours, selon Simpson; en effet, H.C.G. serait capable de stimuler l'hypophyse pour produire F.S.H., alors que I.C.S.H. en serait incapable. Par contre, I.C.S.H., injectée par voie intra-péritonéale, s'oppose à l'action des autres gonadotrophines injectées par voie sous-cutanée (ce que ne peut faire H.C.G.); l'hormone gonadotrope chorionique humaine est plus active sur les cellules interstitielles que I.C.S.H. (qui cependant agit sur les testicules d'oiseaux impubères : ce que ne peut faire H.C.G.).

Simpson [67] montre dans une étude biologique de H.C.G., qu'elle possède des propriétés spécifiques différentes de H.C.G. chez le rat normal.

Des travaux récents ont essayé de montrer que H.C.G. est un produit pur, cependant chimiquement légèrement différent de L.H. (Bourillon et Got [7]).

Par contre, dosé sur le rat hypophysectomisé, l'effet L.H. de réparation des cellules interstitielles est presque seul présent; il faut alors 1 500 à 2 000 UI pour obtenir

un effet sur le développement des follicules. Ainsi, on admet que les hormones chorioniques ont un effet L.H. prédominant.

On ne sait pas si H.C.G. possède des propriétés F.S.H.; mais Butt et Crookes le pensent effectivement [13].

Même les préparations les plus purifiées peuvent avoir, à plusieurs milliers d'unités, un léger effet F.S.H. Mais, de toute façon, l'hormone chorionique est capable de potentialiser l'effet F.S.H. d'origine endogène chez l'animal intact.

Brown et Bradbury [12], Segaloff et coll. [64], constatent que H.C.G. possède un effet lutéotrophique; Segaloff et coll. ont constaté une augmentation de l'élimination de prolactine par voie urinaire pendant l'administration de H.C.G. Ils pensent que H.C.G. stimulerait la sécrétion de lutéotrophine par l'adénohypophyse, et que de faibles quantités de L.T.H. sont susceptibles de potentialiser l'action de L.H.

Nous ne devons, toutefois, accepter ces précisions qu'avec les réserves qu'impose la précision des dosages de lutéotrophine dans les liquides organiques.

Enfin, il n'est pas insensé de croire, qu'à l'image de P.M.S., H.C.G. serait copulée avec des substances protéiques capables de modifier son activité.

Standard international

L'étalon international de gonadotrophine chorionique est constitué par définition, par un comprimé pesant 10 mg dont 0,1 mg = 1 UI.

Ce standard est valable pour toutes les gonadotrophines préparées à partir de l'urine de femme enceinte et seulement pour ces préparations.

L'activité comparée des préparations est basée sur l'observation d'effets gonadotrophiques, directs ou indirects, et sur les changements consécutifs au niveau des organes et accessoires reproducteurs chez les animaux possédant leurs gonades.

En thérapeutique, lors de dysfonctionnements génitaux chez la jument, on utilise la gonadotrophine chorionique, la gonadotrophine sérique ou les extraits d'antehypophyse.

CHAPITRE II

MÉTHODES D'ÉTUDE ET CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES ANTIHORMONES

MOYENS D'ÉTUDE DES ANTIGONADOTROPHINES

On ne possède encore aucune méthode d'étude directe, de mise en évidence et de dosage des antigonadotrophines; jusqu'à maintenant on a utilisé les méthodes habituelles de travail concernant les gonadotrophines, en recherchant quelle pouvait être leur inactivation par leurs anticorps spécifiques. Il existe trois procédés d'étude différents.

Méthodes biologiques

Ce furent les premières méthodes utilisées; d'une manière générale, on recherche la neutralisation de l'action biologique de l'hormone par l'antihormone sur des animaux de laboratoire.

Technique :

A un lot d'animaux, on injecte une quantité déterminée de gonadotrophine (souvent la plus petite quantité

capable de produire une réaction). A un second lot, on injecte la même quantité de gonadotrophine, plus le sérum à examiner.

L'antigonadotrophine inhibe plus ou moins la réaction; avec une dose constante de gonadotrophine et des doses variées de sérum, on obtient une valeur antigonadotrophique du sérum. Mais il est illusoire d'exprimer cette valeur en unités.

Ces techniques visent essentiellement à inhiber l'augmentation du poids de l'ovaire ou de l'utérus, la cornification vaginale, la formation du corps jaune, l'augmentation de poids de la prostate ventrale ou des vésicules séminales chez le rat mâle, la production de l'ovulation sur la lapine, et l'augmentation pondérale des testicules de pigeon. Enfin, il est souvent nécessaire de recourir à des injections quotidiennes durant plusieurs jours.

On utilise ainsi : la réaction de Ascheim et Zondek [3] (ovaire de souris impubère), la réaction de Brouha, Hinglais et Simmonet [11] (vésicules séminales de souriceau mâle), la réaction de Friedmann-Brouha [30] (follicules hémorragiques chez la lapine vierge), puis la réaction de Galli-Mainini [31] (émission de spermatozoïdes chez rana mâle).

On peut employer une méthode d'injections « simultanées », où le sérum et la gonadotrophine sont injectés en même temps, au même animal en différents sites; ou une méthode d'injections « mélangées », où le sérum et la gonadotrophine sont mélangés et injectés après une incubation de 30 minutes à 2 heures.

La méthode dite simultanée aurait été tenue pour plus sensible [44, 50, 51], mais, en fait, la sensibilité dépend surtout de l'utilisateur, car les résultats sont toujours très proches, de même qu'en utilisant une dose de sérum fixe et des doses de gonadotrophine variées.

Le grand défaut des tests biologiques est constitué par le temps nécessaire à la lecture de la réaction. Aussi, la réaction antigène anticorps ayant été confirmée *in vitro*, des tests séro-immunologiques ont été proposés à l'utilisation vis-à-vis des antihormones.

Méthodes séro-immunologiques

Les tests sérologiques ne demandent que peu de matériel et peuvent être exécutés relativement vite. Ils ont cependant le défaut de laisser place à une réaction spécifique dès que l'hormone utilisée ne présente pas un assez haut degré de pureté.

Il existe plusieurs tests permettant d'étudier les antigonadotrophines [15, 73] : précipitation [48], diffusion [59], fixation du complément [10], déviation du complément, hémagglutination et inhibition de l'hémagglutination [75, 76, 70].

Kataoka [37, 39] a comparé différentes méthodes en utilisant une anti-H.C.G. du sérum bovin ; ses résultats montrent qu'il accorde sa préférence au test d'hémagglutination en raison de sa simplicité et de sa sensibilité, supérieures à celles de la fixation du complément ; quant à la précipitation et à la diffusion, ces méthodes ne lui donnent guère satisfaction car elles sont trop aspécifiques.

Avant de réaliser le test d'hémagglutination, il est nécessaire de chauffer le sérum à 56°C pendant 30 minutes ; puis les agglutinines normales sont adsorbées sur hématies de mouton. Une suspension d'hématies ovines traitées à l'acide tannique et à l'H.C.G. est réalisée selon la méthode de Boyden [8], de telle sorte qu'il soit possible de l'utiliser vis-à-vis de l'anti-H.C.G.

L'hémagglutination peut se réaliser de deux façons :

— Dans un tube : 0,3 ml d'une suspension à 5 % d'hématies sensibilisées sont ajoutés à la même quantité

de sérum dilué : la lecture peut se faire après 90 minutes à 37°C.

— Sur une plaque : on met en présence 0,2 ml de sérum dilué et une suspension à 4 % d'hématies sensibilisées; on agite et la lecture peut se faire dans les minutes qui suivent.

Une étude assez précise de l'anti-P.M.S. chez les bovins fut également couronnée de succès avec ce test d'hémagglutination.

Valeur de ces méthodes :

Kataoka [37] a déterminé le pouvoir anti-H.C.G. du sérum bovin par des méthodes sérologiques et biologiques. Il a démontré que le titre anti-H.C.G. obtenu par hémagglutination était à peu près parallèle à celui obtenu par des méthodes biologiques, utilisant la souris femelle impubère.

L'hémagglutination fournit, quant à l'anti-H.C.G., des résultats un peu plus élevés que les méthodes biologiques : un échantillon de sérum donnant une réaction douteuse par une méthode biologique, donne une réaction d'hémagglutination positive au 1/80 en tube et comprise entre 1/80 et 1/160 sur lame. L'hémagglutination pourrait donc être utilisée pour déterminer de petites quantités d'anti-H.C.G. qui n'apparaîtraient pas lors de l'emploi des méthodes biologiques.

SÉRUM N°	POTENTIEL ANTI-H.C.G. PAR ML DE SÉRUM MÉTHODE BIOLOGIQUE	HÉMAGGLUTINATION Tube	HÉMOAGGLUTINATION Lame
1	6	2 560	2 560
2	6	1 280	1 280
3	3	640	640
4	15	320	320
5	15	320	320
6	±	80	80
7	±	80	80
8	—	10	40

Méthodes radio-immunologiques

Ces techniques, introduites il y a une dizaine d'années pour le dosage de l'insuline humaine, connaissent une très grande vogue actuellement. Leur principe requiert l'introduction préalable de traceurs radio-actifs dans la molécule hormonale; il est fondé sur la compétition entre l'hormone non marquée et l'hormone marquée pour se combiner à des anticorps spécifiques. Les constantes d'affinités entre les hormones natives et les hormones marquées sont en général égales et la quantité du complexe formé entre des doses constantes d'hormone radioactive et d'anticorps dépend du taux de l'hormone non marquée mise en présence.

En dernière analyse, il suffit de mesurer la radio-activité du complexe hormone-antihormone. On utilise pour le marquage des hormones, l'iode 125 ou 131, et on isole le complexe antigène anticorps par précipitation, en général à l'aide d'un deuxième système anticorps venant se fixer sur le premier. Cette technique est très séduisante, mais on manque cependant de recul pour son appréciation.

Les méthodes radio-immunologiques nécessitent un très grand degré de purification des réactifs en présence [47].

ANTICORPS - ANTIGONADOTROPHINES

Lorsqu'on injecte pendant de longues périodes des gonadotrophines à des animaux d'expérience, on constate qu'après une période de croissance, les gonades et particulièrement les ovaires, diminuent de volume, à tel point que le cycle sexuel peut cesser.

En 1931, Zondek [80] a rapporté que lorsqu'il administrait H.C.G. à des rates pendant de longues périodes, leurs ovaires s'hypertrophiaient d'abord, puis s'atrophiaient à la manière des rates hypophysectomisées. Selye et ses collaborateurs [65] rapportent que, non seulement les ovaires de rates soumises à des homotransplantations répétées d'hypophyse s'atrophiaient, mais qu'une substance inhibant l'action de l'hypophyse se retrouvait dans le sang des sujets.

Plusieurs rapports [25, 29, 43, 56, 66, 33, 53] traitent la condition réfractaire aussi bien que l'atrophie consécutive des gonades, et le déclin ou l'extinction des fonctions gonadiques chez les animaux d'expérience ayant reçu des injections répétées de gonadotrophines, ou encore chez des animaux ayant reçu des sérums de tels sujets.

Ces vingt dernières années, des agents gonadotrophiques variés ont été utilisés chez les animaux domestiques et le bétail, en particulier, pour le traitement des kystes ovariens, l'infantilisme ovarien, l'hypofonction du testicule, etc., pour la superovulation, pour les essais d'homotransplantation de l'ovule fertilisé. Comme les applications des gonadotrophines deviennent plus courantes, il est intéressant de préciser la période de formation et d'action des antigonadotrophines chez les animaux.

Roberts [60, 61] rapporte que lors des traitements de follicules kystiques chez les bovins, à l'aide de H.C.G., P.M.S. ou d'antehypophyse A.P.G., la récupération des facultés est plus lente si les nouvelles injections ont lieu avec la même gonadotrophine; par contre, il rapporte d'excellents résultats obtenus en changeant de gonadotrophine. Ces faits montrent que ces bovins ont formé une antihormone. En analysant les résultats de traitements de follicules ovariens kystiques avec H.C.G., Tsunekane et Sato [72] ont observé que la guérison était reculée lorsque les injections étaient répétées au-delà du temps voulu.

Dans des expériences de superovulation utilisant P.M.S. et H.C.G., des auteurs japonais [78] ont montré qu'il n'y avait pas de réponse ovarienne chez la vache qui recevait la même gonadotrophine; de cela, il faut déduire qu'une antihormone a été produite. Depuis peu, s'effectuent des recherches considérables sur la superovulation au moyen de gonadotrophines dans le but d'étudier la transplantation de l'ovule; mais un problème d'antihormone vient se superposer [32, 35, 55, 77].

Nombreuses ont été les controverses concernant la nature de l'antihormone. Mais il est maintenant admis qu'il s'agit d'une variété d'anticorps immunologique et que les antihormones possèdent les mêmes propriétés que les anticorps.

Généralement, l'antihormone peut être produite contre une hormone protéique originaire d'espèces animales différentes. Mais, sauf exception, il est impossible d'en produire contre l'hormone homologue [40, 41]; l'antihormone apparaît à la suite d'injections répétées d'hormone étrangère à l'organisme et une apparition spontanée ne serait qu'exception.

Le lieu de production de l'antihormone se situe au niveau du système réticulo-endothélial comme pour un anticorps ordinaire. *In vitro*, des cellules du système réticulo-endothélial sont capables de fabriquer des antihormones.

Les antihormones se retrouvent dans la fraction gamma globuline du sérum.

La réaction hormone-antihormone suit les lois de la réaction antigène-anticorps.

La fréquence, la rapidité de formation et le degré d'activité d'une antihormone sont fonction de l'espèce animale, de la race, de la lignée, de facteurs individuels et du mode d'administration de la gonadotrophine.

Particularités :

Katzmann et al. [41, 42] notent que des antihormones furent produites chez le bélier et la brebis traités sur une longue période avec de l'A.P.G. de mouton et aussi chez la truie recevant de l'A.P.G. porcine.

A propos du traitement des follicules ovariens kystiques et persistants sur des vaches chez lesquelles on a noté une production d'anti-H.C.G., plusieurs rapports [50, 51, 52, 57, 60, 61] démontrent qu'une fois l'anti-H.C.G. produite, les injections d'H.C.G. sont inefficaces. Pour traiter de tels animaux, il faut utiliser d'autres gonadotrophines, telles que P.M.S.G. ou des extraits d'antehypophyse, qui, elles, ne sont pas inhibées par l'anti-H.C.G.

Toutefois, on doit noter que H.C.G. reste active, même à très petite dose (1 000 à 5 000 UI), à condition de l'injecter directement dans le kyste par voie transvaginale : ce qui montre que H.C.G. est inhibée par l'anti-H.C.G. au niveau du sang.

SÉRUMS PROGONADOTROPHIQUES

Thompson [71], reprenant les expériences de Evans et coll. [27], analyse les propriétés de différents sérums d'animaux ayant reçu des extraits hypophysaires de mouton préparés selon la méthode dérivée de celle décrite par Van Dyke et Wallen Lawrence [74].

Les sujets d'expérience étaient deux gros chiens (un mâle et une femelle) et une pouliche. La dose qui leur était administrée quotidiennement variait de 5 ml pour le chien, 25 ml pour la chienne à 50 ml pour la jument. Après quoi les saignées eurent lieu chaque semaine pour les chiens et environ toutes les trois semaines pour la jument.

Les sérums étaient chaque fois testés sur des rats de 25 jours, de la façon suivante :

— L'activité standard des extraits gonadotropes seuls était déterminée par administration de trois injections sous-cutanées à chaque rat d'un même groupe avec sacrification une centaine d'heures après la première injection.

— Un autre groupe de rats recevait le sérum deux fois par jour en commençant deux jours avant l'injection de l'extrait et en continuant pendant la période d'injection de cet extrait. Le sérum était injecté d'un côté du rat et l'extrait de l'autre, de telle sorte qu'il n'y ait pas de mélange: l'effet gonadotrope était mesuré par variation du poids de l'ovaire.

— Après trois à quatre semaines d'injections, les sérums des trois animaux commençaient à manifester une aptitude à augmenter l'action gonadotrope de l'extrait hypophysaire; et, au bout de 50 à 80 jours, l'action biologique de cet extrait était triplée.

Ce remarquable pouvoir « favorisant » fut rapidement perdu par la chienne et la jument au bout de 70 à 90 jours d'injections: à ce moment, des doses modérées de chacun de ces deux sérums inactivaient complètement le pouvoir de l'extrait. Le sérum du chien, qui avait reçu de plus petites quantités d'extrait, continua à « favoriser » l'action gonadotrope de l'extrait pendant 130 jours d'injections.

Thompson constate que les sérums ont transformé un extrait gonadotrope relativement faible, en un extrait plus puissant dont les effets sur l'ovaire ressemblaient à ceux d'une préparation à haute activité P.M.S., et il analyse la nature de cette action « favorisante »; il envisage :

— la présence de F.S.H. dans les sérums,

— une absorption différée de l'hormone gonadotrope,

— la présence dans les sérums d'une antihormone contre les antagonistes des hormones hypophysaires.

De nouvelles expériences furent tentées pour apporter des précisions :

— des sérums furent testés seuls (comme pour F.S.H.) chez des rates impubères hypophysectomisées à l'âge de 25 jours, avec injections à l'âge de 30 jours : en aucun cas il n'y eut de stimulation ovarienne (en fait, les ovaires tendirent plutôt à diminuer par rapport à ceux des sujets de contrôle) ;

— les mêmes tests furent répétés sur des rates normales impubères : un effet F.S.H. fut remarqué, des follicules se développèrent sur les ovaires qui avaient une taille double de la normale. L'impuissance de ce principe à stimuler les ovaires de rates impubères hypophysectomisées sert à la différencier de F.S.H.

Quant à l'idée qu'il puisse y avoir un délai d'absorption, on doit constater que, les tests restant les mêmes, les sérums ont produit une augmentation considérable de semaine en semaine et, à la fin, une inhibition.

Enfin, et pour les raisons suivantes, une antihormone anti-antagoniste ne pouvait être exclue :

a) l'extrait injecté a produit une antihormone aux hormones gonadotropes et thyroïdiennes des différentes espèces animales ;

b) le facteur « favorisant » fut trouvé dans la fraction pseudo-globulinique des sérums (cette même fraction qui contient les anticorps) ;

c) il ne fut trouvé que dans la fraction des pseudo-globulines et se comporte uniquement comme une anti-hormone ;

d) les sérums n'agissant pas sur les ovaires des rates hypophysectomisées, libèrent apparemment F.S.H., de telle sorte que les ovaires des rates normales furent stimulées.

Thompson conclut sur cette hypothèse qui lui semble seule capable d'expliquer le fait que les ovaires aient triplé.

De tels sérums progonadotrophiques ont été décrits par Collip [22], Rowlands [62], Katzmann et al. [40, 41, 42] ; par contre, Cole et ses collaborateurs [20] ont émis l'idée que de petites quantités d'antigonadotrophines pouvaient retarder l'excrétion des gonadotrophines. En fait, le mécanisme de ce phénomène n'est pas encore élucidé à l'heure actuelle.

CHAPITRE III

RECHERCHES PERSONNELLES

Bien qu'il y ait actuellement de nombreux rapports sur la formation des antihormones chez les animaux domestiques, l'absence d'ouvrages traitant de ce problème dans l'espèce équine est quasi-totale.

Seuls, Snook et Cole, en 1964 [69], ont fait paraître une publication concernant le sujet qui nous intéresse; ils y relatent une expérience réalisée sur deux juments ayant reçu plusieurs séries d'injections de H.C.G. et nous donnent les propriétés biologiques des sérums de ces juments, après l'expérience.

Puis, en 1969, Snook [68] décrit les propriétés immunologiques et biologiques d'antisérums hautement puissants à L.H. bovine préparés sur deux juments de trait; ces juments avaient reçu 5 mg de NIH-LH-B3, trois fois par semaine, six semaines durant: elles avaient reçu une série identique six mois plus tard.

A la suite de la première série, 1 ml d'antisérum pouvait inhiber l'activité biologique de 80 µg de L.H. bovine, ceci étant vérifié par le test du poids de la prostate ventrale.

Les titres anti furent dix fois plus élevés à la suite de la seconde série d'injections.

Nous avons recherché, sur 7 juments de Pur Sang Anglais, quelle pouvait être l'influence d'injections d'hormones gonadotropes à des doses thérapeutiques, sur les conditions de formation des antihormones.

La période retenue fut l'automne, c'est-à-dire une époque où, d'une manière générale, les juments sont au repos sexuel dans notre hémisphère; ceci, afin de ne pas avoir à tenir compte des manifestations œstrales ou de dysfonctionnements de l'appareil génital.

De plus, ces juments se trouvant en cours de carrière de reproduction, il était nécessaire que toute expérience cessât avant la saison de monte.

Nous avons d'emblée retenu l'ovaire de lapine comme méthode d'étude. En effet, le Laboratoire de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse utilise depuis de nombreuses années la réaction de Friedmann-Schneider comme test de diagnostic de la gestation chez la jument. Ce test s'est toujours révélé d'une grande précision, même comparé aux autres tests biologiques ou immunologiques; le pourcentage d'erreur y fut en tout cas inférieur à 1 %.

Nous avons utilisé des préparations commerciales de gonadotrophines : d'une part, en raison de leur emploi thérapeutique chez la jument et, d'autre part, il a été montré [47] qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser une gonadotrophine pure pour étudier l'antigonadotrophine qu'elle engendre.

ANTIGONADOTROPHINE CONTRE H.C.G.

L'hormone nous a été fournie par les Laboratoires Sovetal, sous forme d'une préparation titrant 1 000 UI par flacon et qui est la présentation commerciale.

Caractéristiques

de la gonadotrophine chorionique utilisée et contrôle du sérum des juments

Le 1-10-1969 : Nous prenons un flacon, c'est-à-dire 1 000 UI, que nous mettons en solution dans 50 ml de sérum physiologique, de telle sorte que notre solution titre 20 UI/ml.

D'autre part, on considère généralement que 1 UL = 6-7 UI, ce qui nous conduit à admettre un titre de 3 UL/ml.

A 2 ml, soit 6 UL de cette solution, on ajoute 4 ml de sérum physiologique, de façon à obtenir une solution fille titrant théoriquement 1 UL/ml.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION 3-10-69
1-10	01	2 ml (2 UL)	1 follicule hémorragique sur 1 ovaire.
1-10	02	2 ml (2 UL)	1 follicule hémorragique sur chaque ovaire.
4-10	Reprise de la solution à 3 UL/ml. A 2 ml on ajoute 10 ml de sérum physiologique soit 6 UL/12 ml et 2 ml = 1 UL.		
			6-10-69
4-10	03	2 ml (1 UL)	M. négative
4-10	04	2 ml (1 UL)	M. négative

Expériences :

Le 7-10-1969 : On prélève du sang avant toute immunisation aux trois juments :

Zelten
Môme — Série I
Willuna

Le lendemain on prépare une solution de gonadotrophine identique à celle du 1-10-69 et de telle sorte que la solution fille contienne 1 UL/ml: on en ajoute 2 ml à 10 ml du sérum de chaque jument.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES Le 10-10-69
8-10	05	2 ml = 2 UL H.C.G. + 10 ml sérum Willuna.	Négative.
8-10	06	2 ml = 2 UL H.C.G. + 10 ml sérum Môme.	2 follicules hémorragiques sur 1 ovaire.
8-10	07	2 ml = 2 UL H.C.G. + 10 ml sérum Zelten.	2 follicules hémorragiques sur 1 ovaire.

Le sérum de Willuna étant négatif, le test sera refait avec une autre lapine le 11-10, afin de ne pas considérer d'emblée cette réponse négative comme un résidu d'anti-H.C.G. dans le sang de la jument, qui par ailleurs a eu une carrière de reproductrice assez mouvementée et aurait pu recevoir antérieurement de la gonadotrophine chorionique.

Immunisations :

Les injections ont été réalisées à la dose de 5 000 UI, c'est-à-dire à une dose employée couramment en thérapeutique chez la jument; de même, nous avons choisi des intervalles compatibles avec ceux d'un traitement en période œstrale.

Les 5 000 UI de gonadotrophine chorionique ont été injectées à chaque fois par voie intramusculaire aux trois juments : Willuna, Môme et Zelten, le 9 octobre, le 18 octobre, le 10 novembre et le 26 novembre.

Résultats :

Le 10 octobre : prise de sang aux trois juments

Willuna
Môme — Série II
Zelten

Le 11 octobre : on reprend la solution de gonadotrophine chorionique du 8-10, on utilise 2 ml de la solution à 20 UI/ml, auxquels on ajoute 4 ml de sérum physiologique pour obtenir une solution fille II, contenant 1 UL/ml. On inocule, par voie intraveineuse, 2 ml de cette solution fille II, à une lapine; puis 2 ml de la même solution plus 10 ml du sérum de Willuna (série I), à une autre lapine; enfin, 20 ml de sérum de Willuna, Môme et Zelten, prélevés le 10 octobre (série II), sont inoculés à trois lapines.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
11-10	08	2 ml solution fille II.	1 follicule hémorragique sur 1 ovaire.
11-10	09	2 ml solution fille II. 10 ml sérum Willuna (S. I).	2 follicules hémorragiques sur 1 ovaire.
11-10	10	20 ml sérum Willuna (S. II).	Négative.
11-10	11	20 ml sérum Môme (S. II).	Négative.
11-10	12	20 ml sérum Zelten (S. II).	Négative.

La lapine n° 09 confirme, avec le sérum de Willuna, les résultats obtenus par les sérums de Môme et de Zelten, sur les lapines 06 et 07 le 8 octobre; quant aux trois sérums de la série II, ils sont bien négatifs.

Tableau récapitulatif H.C.G.

INJECTIONS	PRISES DE SANG
	10 octobre - Série II
9 octobre	7 octobre - Série I
	20 octobre - Série III
18 octobre	26 novembre - Série V
	6 décembre - Série VI
10 novembre	12 novembre - Série IV
	15 décembre - Série VII
26 novembre	7 janvier 70 - Série VIII
	24 janvier 70 - Série IX

Le 19 octobre 1969, on réalise 18 heures après l'injection de 5 000 UI de gonadotrophine chorionique, une nouvelle prise de sang aux trois juments : Série III. On ne pourra pas, toutefois, tirer de conclusions de cette série de sérums étant donné que la plupart des lapines ne résistèrent pas aux injections; cette mortalité élevée fut, à l'époque, attribuée à la désinsectisation de l'animalerie.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
20-10	19	20 ml Willuna (S. II).	Morte 10 mn après injection.
20-10	17	2 UL + 10 ml Willuna (S. III).	Morte 10 mn après injection.
20-10	55	20 ml Zelten (S. III).	Morte immédiatement après injection.
20-10	18	2 UL + 10 ml Zelten (S. III).	Morte immédiatement après injection.
20-10	20	20 ml Môme (S. III).	Négative le 22 oct. 69.
20-10	15	2 UL + 10 ml Môme (S. III).	4 follicules hémorragiques sur 1 ovaire. 5 follicules hémorragiques sur le 2e ovaire.
22-10	21	20 ml Zelten (S. III *bis*) récoltés le jour même.	Négative le 24 oct. 69.
22-10	22	2 UL + 10 ml Zelten (S. III *bis*).	Morte quelques heures après injection (négative).

Le 12 novembre, on réalise de nouvelles saignées, approximativement 48 heures après injections de H.C.G. aux trois juments Série IV.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES 15-11-69
13-11	24	2 UL + 10 ml Willuna (S. IV).	Négative.
13-11	25	2 UL + 10 ml Môme (S. IV).	Négative.
13-11	26	2 UL + 10 ml Zelten (S. IV).	4 follicules hémorragiques sur 1 ovaire. 1 follicule hémorragique sur le 2e ovaire.

On peut remarquer que 48 heures après la troisième injection, et un peu plus d'un mois après la première, 10 ml de sérum de deux juments inactivent complètement l'activité biologique de 2 UL de H.C.G. chez la lapine.

Le 26 novembre, jour d'administration de la quatrième injection de gonadotrophine chorionique aux trois juments, nous réalisons une cinquième série de prises de sang dont on congèle les sérums. Nous procédons de la même manière pour une sixième série récoltée le 6 décembre 1969; ceci, afin de tester ces différents sérums, en même temps qu'une septième série récoltée le 15 décembre et qui sera testée fraîche.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
15-12	29	2 UL + 20 ml Willuna (S. IV).	Négative.
15-12	30	2 UL + 10 ml Willuna (S. V).	Négative.
15-12	32	2 UL + 10 ml Môme (S. V).	Négative.
15-12	31	2 UL + 10 ml Zelten (S. V).	2 follicules hémorragiques sur 1 ovaire.

16-12	33	2 UL + 10 ml Willuna (S. VI).	Négative.
16-12	35	2 UL + 10 ml Môme (S. VI).	Négative.
16-12	34	2 UL + 10 ml Zelten (S. VI).	Négative.
16-12	37	2 UL + 10 ml Willuna (S. VII).	Négative.
16-12	36	2 UL + 10 ml Môme (S. VII).	Négative.
16-12	38	2 UL + 10 ml Zelten (S. VIII).	Négative.

Alors que les sérums de Willuna et Môme recelaient déjà des antigonadotrophines le 12 novembre, 10 ml de sérum de Zelten n'inhiberont l'activité de deux unités lapines que lorsque la sixième série sera prélevée le 6 décembre.

Ainsi, en un peu moins de deux mois, les trois juments ont présenté des anticorps contre la gonadotrophine chorionique humaine qui leur avait été injectée comme antigène.

Toutefois, le sérum de Zelten posait un problème : il neutralisait l'activité de l'hormone avec un certain décalage dans le temps, par rapport aux sérums des deux autres juments. Nous avons repris du sérum congelé de la série V pour vérifier que ce sérum n'était devenu ni gonadotrope, ni progonadotrope; le sérum s'est révélé négatif de ce point de vue.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
22-12	41	12,5 ml Zelten (S. V).	Négative.

Environ six semaines, puis deux mois après la dernière injection de gonadotrophine chorionique, nous avons

effectué deux nouvelles prises de sang aux trois juments, afin de contrôler la persistance des antihormones :

— le 7 janvier 1970 : série VIII;

— le 24 janvier 1970 : série IX.

Sur les trois juments, on peut penser que l'une ne présente plus d'antihormone; en effet, la lapine ayant reçu 10 ml de son sérum et 2 UL de gonadotrophine chorionique, présente, après 48 heures, un follicule hémorragique sur un seul ovaire lors de l'utilisation de la série VIII; par contre, elle présente un follicule sur un ovaire et trois sur l'autre avec la série IX.

Quant aux deux autres juments, l'absence de follicules hémorragiques caractéristiques, nous conduit à penser qu'elles présentent encore des antihormones; ceci met en évidence, comme toujours en gynécologie, l'importance prépondérante des facteurs individuels.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
10-1	51	2 UL + 10 ml Willuna (S. VIII).	Négative.
10-1	52	2 UL + 10 ml Zelten (S. VIII).	1 follicule hémorragique sur 1 ovaire.
10-1	53	2 UL + 10 ml Môme (S. VIII).	Négative.
27-1	62	2 UL + 10 ml Willuna (S. IX).	Négative.
27-1	61	2 UL + 10 ml Môme (S. IX).	Négative.
27-1	63	2 UL + 10 ml Zelten (S. IX).	1 follicule sur 1 ovaire. 3 follicules sur l'autre.

A titre d'essai, et bien que H.C.G. ne soit pas réputée très allergisante, nous avons réalisé le 14 janvier des injections intradermopalpébrales à l'œil droit aux trois juments d'expérience et à deux juments témoins: Rica et La Polka. L'antigène utilisé était constitué par 200 UI de notre gonadotrophine chorionique dans un volume de $\frac{1}{2}$ ml. Le contrôle, 48 heures après, ne montra pas de réactions.

	RICA	LA POLKA	WILLUNA	MÔME	ZELTEN
Intradermo-palpébrale de H.C.G.	1/2 ml = 200 U.I.	1/2 ml = 200 U.I.	1/2 ml = 200 U.I.	1/2 ml = 200 U.I.	1/2 ml = 200 U.I.
Lecture après 48 h	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative

UTILISATION DE LA DÉVIATION DU COMPLÉMENT

La méthode de déviation du complément jouissant d'une bonne réputation dans différentes études, nous l'avons utilisée pour tester nos deux dernières séries de sérums.

D'abord le 16 janvier 1970, nous avons repris des sérums congelés de la série VIII; l'antigène utilisé fut notre solution de gonadotrophine chorionique titrant 1 UL/ml; le complément était tiré à 1/30 : la réaction se révéla négative pour les trois juments.

De même, le 22 janvier, avec la même série de sérums congelés, un complément titré au 1/33 et une solution en sérum physiologique de gonadotrophine à 3 UL/ml : les trois réactions restèrent négatives.

Enfin, la série IX fut testée à l'état frais avec l'antigène dosé à 3 UL et 1 UL/ml et le complément titré au 1/30.

	ANTIGÈNE A 3 UL/ML	ANTIGÈNE A 1 UL/ML
Willuna (S. IX)		
Môme (S. IX)		
Zelten (S. IX)		

Nous aurions voulu, en utilisant la déviation du complément, préciser la présence des antihormones dans la série VIII, pour en comparer les taux avec ceux de la

série IX, que nous voulions considérer comme test de persistance.

Les juments ainsi traitées sont parfaitement revenues en chaleur au cours de la saison de monte suivante; aucun décalage dans le temps ne fut observé par rapport aux autres juments entretenues dans l'établissement; aucune n'a été bloquée.

ANTIHORMONES

CONTRE LES EXTRAITS ANTEHYPOPHYSAIRES

Caractéristiques de l'extrait A.P.G. utilisé :

Nous avons utilisé un extrait d'antehypophyse de bovin fourni par les Laboratoires Roger Bellon, et livré en septembre 1969, sous forme de la préparation commerciale lyophilisée, à 2,5 g par flacon (commercialisé à l'époque sous le nom de « Ovu Major »).

A la réception de ces extraits, nous avons dilué le contenu d'un flacon de produit lyophilisé avec 5 ml de sérum physiologique. Après vérification, par laparotomie, de l'état de repos des ovaires d'une lapine, nous lui avons injecté la totalité de ces 5 ml par voie sous-cutanée. 48 heures plus tard, la lapine présentait une réaction de Friedmann-Schneider positive : 10 follicules hémorragiques sur chaque ovaire.

Le 17 décembre 1969, nous reprenons un flacon de produit lyophilisé que nous diluons dans 5 ml de sérum physiologique (solution mère) ; 1 ml de cette solution est porté dans 5 ml de sérum physiologique (solution fille) et nous inoculons 2 ml de la solution fille (soit 1/15^{e} du flacon) à deux lapines par voie intraveineuse.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
17-12	39	2 ml solution fille.	1 follicule hémorragiq sur 1 ovaire.
17-12	40	2 ml solution fille.	1 follicule sur 1 ovaire.

Dès lors, cette quantité de 1/15e de l'ampoule, ou 2 ml de solution fille, sera considérée comme représentant approximativement l'unité lapine UL.

Immunisations :

De même que pour la gonadotrophine chorionique, nous avons choisi des quantités et des intervalles compatibles avec ceux d'un traitement de printemps; ceci, bien que lors d'hyperœstrus par exemple, il soit nécessaire d'utiliser une dose double en deuxième injection.

Ce sont quatre juments de Pur Sang Anglais qui ont reçu les extraits A.P.G. par voie intramusculaire, à raison d'un flacon dosé à 2,5 g, suivant le programme ainsi établi.

Deux juments, Ondulation et Feuerlilie, ont reçu deux séries d'injections; la première série de 2 injections les 27 et 31 octobre 1969. Un mois plus tard, une deuxième série de 5 injections aux dates suivantes : 26 novembre, 28 novembre, 6 décembre, 15 décembre et 30 décembre 1969. Par contre, les deux autres juments, Mabern et Sunshine, n'ont reçu que la seconde série.

Résultats :

Des conclusions sur l'utilisation des extraits hypophysaires chez la jument par M. le Professeur Berthelon [4], nous autorisent à penser qu'ils sont assez peu antigéniques dans cette espèce, de telle sorte que la première série de prises de sang ne sera réalisée que le 15 décembre pour les quatre juments (Mabern, Ondulation, Feuerlilie et Sunshine) (série I). A 10 ml de sérum de chaque jument, on ajoute 2 UL d'extrait A.P.G.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
22-12	44	2 UL + 10 ml Mabern (S. I).	1 follicule sur 1 ovaire.
22-12	42	2 UL + 10 ml Sunshine (S. I).	2 follicules sur 1 ovaire.
22-12	43	2 UL + 10 ml Feuerlilie (S. I).	1 follicule sur 1 ovaire.
22-12	45	2 UL + 10 ml Ondulation (S. I).	1 follicule sur 1 ovaire.

On doit alors constater que les réactions lues sur les lapines semblent correspondre à l'activité biologique moyenne de notre unité lapine, et l'on pourrait penser que 10 ml de sérum de chaque jument inhiberaient alors la valeur de 1 UL, mais les deux juments, Ondulation et Feuerlilie, ont reçu une première série de deux injections en octobre et il est probable qu'elles n'ont pas alors formé d'antigonadotrophine, car elles ne présentent pas ce phénomène de remontée des anticorps signalés dans toutes les autres espèces et chez la jument. Pour tenter d'élucider ce phénomène, nous avons repris cette même série I de sérums pour les tester avec une seule unité lapine.

Récapitulatif A.P.G.

INJECTIONS		PRISES DE SANG	
27/10	Ondulation Feuerlilie	15/12 Série I	Ondulation Feuerlite Sunshine Mabern
31/10	Ondulation Feuerlilie		
26/11	Ondulation Feuerlite Mabern Sunshine	7/1 Série II	Idem
28/11	Idem		
6/12	Idem	24/1 Série III	Ondulation Feuerlilie Mabern
15/12	Idem		
30/12	Idem		

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
27-12	46	1 UL + 12 ml Feuerlilie (S. I).	3 follicules sur chaque ovaire.
27-12	47	1 UL + 12 ml Ondulation.	6 à 7 follicules sur chaque ovaire.
27-12	48	1 UL + 12 ml Sunshine.	Négative (*).
27-12	49	1 UL + 12 ml Mabern.	2 follicules sur 1 ovaire. 4 follicules sur le 2e ovaire.

(*) La lapine n° 48, négative avec Sunshine a ensuite été négative avec une urine de femme enceinte ayant positivée une autre lapine; cette même lapine n° 48 a reçu ensuite du sérum de la jument Débordante (pleine) et la réaction a été très positive.

Les réactions des lapines, très supérieures à celles que l'on devait attendre d'une seule unité lapine (alors qu'une inhibition était soupçonnée), nous montrent qu'en fait les sérums des juments présentent une activité progonadotrope, telle que celle décrite par THOMPSON et que nous avons précédemment citée.

Le 7 janvier 1970, soit huit jours après la cessation de toutes les injections, une nouvelle saignée (série II), est pratiquée sur les quatre juments et les sérums sont testés le 12 janvier.

DATE	LAPINE N°	INJECTION INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
12-1	54	I UL + 10 ml Mabern (S. II).	1 follicule hémorragique sur 1 seul ovaire.
12-1	55	I UL + 10 ml Feuerlilie (S. II).	4 follicules sur 1 ovaire. 1 follicule sur le 2e ovaire.
12-1	56	1 UL + 10 ml Sunshine (S. II).	Négative.
12-1	57	I UL + 10 ml Ondulation (S. II).	8 à 9 follicules sur chaque ovaire.

Il est remarquable que les deux juments, Ondulation et Feuerlilie, qui ont reçu davantage d'A.P.G., montrent encore une activité progonadotrope certaine, tandis que les deux autres juments ne présentent pas de réaction significative.

Un nouveau test sera réalisé la dernière semaine de janvier, soit environ un mois après la dernière injection d'A.P.G. aux quatre juments. Cette série III ne nous permet pas de préciser la formation d'antihormone par les juments ayant reçu les extraits antehypophysaires.

DATE	LAPINE N°	INTRAVEINEUSE INTRAVEINEUSE Volume	LECTURE DE LA RÉACTION APRÈS 48 HEURES
27-1	58	I UL + 10 ml Mabern (S. III).	6 follicules sur 1 ovaire. 4 follicules sur l'autre.
27-1	59	I UL + 10 ml Ondulation (S. III).	3 follicules sur 1 ovaire. 1 follicule sur l'autre.
27-1	60	1 UL + 10 ml Feuerlilie (S. III).	3 follicules sur 1 ovaire. 1 follicule sur l'autre.

UTILISATION D'UN TEST IMMUNOLOGIQUE

Nous avons réalisé des réactions de déviation du complément avec les sérums de trois juments :

Feuerlilie
Mabern
Ondulation
} Série III

Comme antigène, nous avons utilisé la même préparation d'antehypophyse, mais cette fois en la dosant à 0,5 UL/ml et 2,5 UL/ml, avec un complément titré au 1/30e.

ANTIGÈNE/JUMENTS	0.5 UL/ML	2,5 UL/ML
Feuerlilie	—	—
Mabern	—	—
Ondulation	—	—

Toutes les réactions furent négatives.

Comme les juments qui avaient reçu de l'H.C.G., celles qui reçurent des injections d'A.P.G. ont présenté des chaleurs et un cycle normaux au printemps suivant.

CONCLUSION

Le but de nos modestes travaux était de rechercher, sur des juments de Pur Sang Anglais, si des injections répétées de gonadotrophines (à des doses et des intervalles compatibles avec la thérapeutique) pouvaient entraîner un processus de formation d'antigonadotrophines.

A cet effet, nous avons éliminé d'emblée la recherche et la mise en évidence de l'anti-P.M.S. Celle-ci est considérée comme la moins immunisante par de nombreux auteurs, ce qui explique la difficulté qu'ils ont eu à mettre au point une méthode immunologique de diagnostic de la gestation chez la jument; et, de plus, dans notre cas, l'anti-P.M.S. constituait une antihomogonadotrophine, donc impossible à obtenir dans le temps imparti aux expériences, et si tant est qu'on puisse obtenir une anti-P.M.S. chez la jument non gestante même hors période œstrale.

— Après quatre injections de gonadotrophine chorionique humaine à la dose de 5 000 UI par voie intramusculaire, 10 ml de sérum de chaque jument pouvaient inhiber complètement l'activité biologique de 2 UL de H.C.G. par le test de l'ovaire de la lapine.

— Si à des doses raisonnables, la persistance de l'antihormone produite ne semble pas être très importante, il convient toutefois d'être extrêmement prudent avant de répéter des doses élevées de gonadotrophine chorionique chez une jument en hyperœstrus ou présentant des chaleurs anovulatoires.

— Les extraits antehypophysaires totaux, injectés à quatre juments, n'ont pas provoqué la formation, dans leur sang, de substances inhibant leur activité sur la lapine.

Au contraire, les sérums de trois des juments ont montré une activité progonadotrope marquée vis-à-vis de l'A.P.G. injectée à la lapine.

— Thompson [71] a montré qu'à la suite d'injections répétées d'A.P.G., il se développait une activité antigonadotrope quand s'estompait l'activité progonadotrope. Mais il avait administré des quantités d'antehypophyse largement supérieures à celles employées en thérapeutique.

De même, l'antisérum hautement puissant à L.H. bovine, préparé sur des juments par Snook [68], faisait suite à six semaines d'injections trihebdomadaires.

— Les extraits antehypophysaires nous paraissent, en conséquence, préférables pour un traitement de dysfonctionnement ovarien chez la jument qui nécessiterait la répétition des injections. C'est ainsi qu'il est conseillé lors d'hyperœstrus, d'injecter de l'A.P.G. de bovin à la dose de 200 RU et de recommencer 15 jours plus tard à la dose de 400 RU si cela est nécessaire [4], de façon à faire évoluer l'hyperœstrus en œstrus vrai et cela sans risque aucun.

Vu : *Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire,*

Rapporteur,

M. BERTHELON.

Vu : *Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire,*

R. FLORIO.

Vu : *Le Président de la Thèse,*

PONTONNIER.

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 15 mai 1972.

Le Président de l'Université Paul-Sabatier,

L. LARENG.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Amoroso (E.C.). — *Brit. Med. Bull., 11,* 117 (1955).

[2] Asheim (S.), Zondek (B.). — *Klin. Wochschr., 7,* 8, 1404 et 6, 1322 (1928).

[3] Asheim (S.). — *Arch. Gynäkol., 155,* 44 (1933).

[4] Berthelon (M.). — Professeur Chaire de Pathologie de la Reproduction. Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse. Communications personnelles.

[5] Bourillon (R.), Got (R.), Bougereau (J.), Marcy (R.). — Sur une mucoprotéine du sérum de jument gravide et son rôle de transport de l'hormone gonadotrope. *Bull. Soc. Chim. Biol., 39,* 1119 (1957).

[6] Bourillon (R.), Got (R.), Marcy (R.). — Localisation et isolement de l'activité gonadotrope dans le sérum de jument gravide. *Bull. Soc. Chim. Biol., 40,* 87 (1958).

[7] Bourillon (R.), Got (R.). *Bull. Soc. Chim. Biol., 41,* 643 (1959).

[8] Boyden (S.V.). — The adsortion of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. Exp. Med., 93,* 107-120 (1951).

[9] Brody (S.), Carlström (G.). — Estimation of human chorionic gonadotrophin in biological fluids by complement fixation. *Lancet, 11,* 99 (1960).

[10] Brody (S.), Carlström (G.). — Clinical application of a serological method for the determination of human chorionic gonadotropin. *Nature,* Lond., *189,* 841-842 (1961).

[11] Brouha (L.), Hinglais (H.), Simonnet (H.). — *Bull. Acad. Med., 103,* 150-160 (1930).

[12] Brown (W.E.), Bradbury (J.T.). — *Amer. J. Obst. Gyn., 53,* 749 (1947).

[13] Butt (W.R.), Crooke (A.C.), Cunningham (J.F.). — *Acta Endocrinol., 32,* 509-518 (1959).

[14] Catchpole (H.R.), Lyons (W.R.). — *Am. J. Anat., 55,* 167-227 (1934).

[15] Chase (J.H.). — Serological and immunochemical studies on gonadotropic hormones. *Yale J. Biol. Med., 17,* 517-528 (1945).

[16] Cole (H.H.), Goss (H.). — In « Essays in Biology in Honour of H.M. Evans », p. 107. Univ. California Press., Berkeley, Californie (1943).

[17] Cole (H.H.), Hart (G.H.). — *Am. J. Physiol., 93,* 57 (1930).

[18] Cole (H.H.), Pencharz (R.I.), Goss (H.). — *Endocrinology, 27,* 548 (1940).

[19] Cole (H.H.), Goss (H.), Boda (J.). — *J. Clin. Endocrinol., 10,* 432 (1950).

[20] Cole (H.H.), Hamburger (C.), Neimann Sorensen (A.). — Studies on antigonadotropins with emphasis on their formation in cattle. *Acta Endocrinol., 26,* 286-299 (1957).

[21] Cole (R.D.), Li (C.H.). — *J. Biol. Chim., 213,* 197 (1955).

[22] Collip (J.B.). — Results of further experiments with antimaturity hormone. *Canad. M.A.J., 36,* 199 (1937).

[23] Collip (J.B.), Anderson (E.M.). — The production of serum inhibitory to the thyrotropic hormone. *Lancet, 226,* 76-78 (1934).

[24] Collip (J.B.), Anderson (E.M.). — Studies on the thyrotropic hormone of anterior pituitary. *J. Med. Ass., 104,* 965-969 (1935).

[25] Collip (J.B.), Selye (H.), Williamson (J.E.). — Changes in the hypophysis and the ovaries of rats chronically treated with an anterior pituitary extract. *Endocrinology, 23,* 279-284 (1938).

[26] Diczfalusy (E.), Heinrichs (H.D.). — *Arch. Gynäkol., 187,* 559 (1956).

[27] Evans (H.M.), Korpi (K.), Pencharz (R.I.), Simpson (M.E.). — *Univ. California Pub.,* in *Anat., 1,* 237 (1936).

[28] Evans (H.M.), Simpson (M.E.). — In the hormones. G. Pincus. Academic Press N.Y. (1950).

[29] Fluhmann (C.F.). — Comparative studies of gonadotropic hormones IV ovaries and hypophyses of rats in chronic treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 34,* 691-694 (1936).

[30] Friedmann (M.H.). — *Amer. J. Physiol., 90,* 617 (1929).

[31] Galli-Mainini (C.). — *J. Clin. Endocrinol., 7,* 653 (1947).

[32] Hafez (E.S.E.), Rajakoski (E.), Anderson (P.), Forst (O.L.), Smith (G.). — Problems of gonadotropin induced multiple pregnancy in beef cattle. *Amer. J. Vet. Res., 25,* 1074-1079 (1964).

[33] Hamburger (Chr). — How early can antigonadotropic hormone be demonstrated. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.,* suppl., *37,* 224 (1938).

[34] Hellbaum (A.A.). — *Ann. J. Physiol., 119,* 331 (1937).

[35] Jainudeen (M.R.), Hafez (E.S.E.), Gollnick (P.D.), Moustafa (C.A.). — Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Amer. J. Vet. Res., 27,* 669-675 (1966).

[36] Jones (G.E.S.), Gey (G.O.), Gey (M.R.). — *Johns Hopk. Hosp. Bull., 75,* 359 (1943).

[37] Kataoka (T.). — Immunoassay of human chorionic gonadotropin and anti human chorionic gonadotropin. *Jap. J. Fert. Steril, 9,* 133-139 (1964). En Japonais, sommaire en Anglais.

[38] Kataoka (T.), Nakahara (T.), Kaneda (Y.), Yamauchi (M.). — Studies on the immunoassay of antihormone against pregant Mare Serum Gonadotropin (anti P.M.S.) in cattle. *Jap. J. Vet. Sci., 26,* suppl. 527 (1964). En Japonais, sommaire de la présentation en Anglais.

[39] Kataoka (T.), Nakahara (T.), Kaneda (Y.), Yamauchi (M.). — Immunoassay of antihormone against human chorionic gonadotropin in bovine serum. *Bull. Nat. Inst. Anim. Hlth., 50,* 15-223 (1965); *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart., 5,* 112 (1965).

[40] Katzmann (P.A.), Wade (N.J.), Doisy (E.A.). — Effects of chronic implantation of rats with pituitories of same species. *Endocrinology, 27,* 7 (1937).

[41] Katzmann (P.A.), Wade (N.J.), Doisy (E.A.). — Progonadotropic sera of animals treated with hypophyseal extracts. *Endocrinology, 25,* 554-557 (1939).

[42] Katzmann (P.A.), Wade (N.J.), Doisy (E.A.). — Gonadotropic modifying action of sera of animals treated with hypophyseal extracts. *Endocrinology, 41,* 27-34 (1947).

[43] Kupperman (H.S.), Meyer (R.K.), Herts (R.). — The effect of antigonadotropic sera upon gonadotropic secretion in parabiotic rats. *Endocrinology, 24,* 115-118 (1939).

[44] Leathem (J.H.). — The antihormone probleme in endocrine therapy. *Recent. Prog. Horm. Res., 4,* 115-152 (1949).

[45] Leclercq (M.), Derivaux (J.). — Considérations sur certaines propriétés de la gonadotrophine du sérum de jument gravide. *Bull. Acad. Vét., 38,* 357-359 (1965).

[46] Legault Demare (J.), Clauser (H.), Justiz (P.). — Nouvelle méthode de purification de l'hormone gonadotrope sérique de jument gravide. *Biochem. Biophys. Acta, 30* (1958).

[47] Lunenfeld (B.), Eshkol (A.). — Immunology of follicle stimulating hormone and lutinizing hormone. *Vit. and Hormones, 27,* 131-197 (1969).

[48] Mc Kean (C.M.). — Preparation and use of antisera to human chorionic gonadotropin. *Amer. J. Obst. Gynecol., 80,* 596-600 (1960).

[49] Nakahara (T.), Yamauchi (M.), Kataoka (T.). — Studies on the antihormone against human chorionic gonadotropin (anti H.C.G.) in cattle. *Jap. J. Anim. Reprod., 7,* 27-32 (1961) (Sommaire en Anglais).

[50] Nakahara (T.), Yamauchi (M.), Kataoka (T.), Maruyama (Y.), Kaneda (Y.). — Studies on the antihormone against human chorionic gonadotropin (anti H.C.G.) in cattle. III. Hormonal treatment of refractory ovarian follicle cysts in cattle by injecting H.C.G. directly into the cysts. *Jap. J. Anim. Reprod., 7,* 123-129 (1961). In Japanese, English summary.

[51] Nakahara (T.), Kaneda (Y.), Yamauchi (M.). — Studies on the antihormone against human chorionic gonadotropin (anti H.C.G.) in cattle. VI. Some aspects on the characteristics of bovine serum anti H.C.G. *Jap. J. Anim. Reprod., 10*, 9-16 (1964). In Japanese, English summary.

[52] Nishikawa (Y.), Surgie (T.). — Serum gonadotropin. New therapy for ovarian cysts in cows. *Amer. J. Vet. Res., 23*, 788-793 (1962).

[53] Oestergaard (E.). — Antigonadotropic substances. Experimental and clinical studies on the formation of antigonadotropic substances under treatment with gonadotropic hormones. E. Munksgaard, édit., Copenhague, 1942.

[54] Oestergaard (E.). — In : Les gonadotrophines en gynécologie. XXI[es] Assises françaises de gynécologie. Masson, édit., Paris, 1962.

[55] Onuma (H.), Hahn (J.), Maurer (R.R.), Foote (R.H.). — Repeated superovulation in calves. *J. Anim. Sci., 28*, 634-637 (1969).

[56] Parkes (A.S.), Rowlands (I.W.). — Inhibitions of ovulation in the rabbit, by antigonadotropic serum. *J. Physiol., 88*, 305-311 (1936).

[57] Paredis (F.), Vandeplassche (P.). — Intrafollicular administration of pregnancy urine hormone (P.U.) as a treatment for nymphomania in dairy cattle. *Proc. 15th Int. Vet. Congr.*, Part I, 738-742 (1953).

[58] Raacke (I.D.), Lostroh (A.J.), Boda (J.M.), Li (C.H.). — *Acta Endocrinol., 26*, 377 (1957).

[59] Richards (C.B.). — Simple immunological method for the diagnosis of pregnancy in mares. *Nature, 215*, 1280 (1967).

[60] Roberts (S.J.). — Clinical observations on cystic ovaries in dairy cattle. *Cornell Vet., 45*, 497-508 (1955).

[61] Roberts (S.J.). — A preliminary report on the treatment of cystic ovaries in dairy cattle by the injection of gonadotropic hormones directly into the follicular cyst. *J. Amer. Vet. Med. Ass., 131*, 510-513 (1957).

[62] Rowlands (I.W.). — Progonadotropic sera. *Proc. Roy. Soc. Lond., 124 B,* 492-503 (1937).

[63] Schmidt-Elmendorf (H.), Loraine (J.R.), Bell (E.T.), Walley (J.K.). — *J. Endocrinol., 25;* 107 (1962).

[64] Segaloff (A.), Steelman (S.L.), Flores (A.). — *Endocrinology, 59,* 233 (1956).

[65] Selye (H.), Collip (J.B.), Thompson (D.L.). — Loss of sensitivity to the gonadotropic hormone of the hypophysis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 31,* 566 (1934).

[66] Severinghaus (A.E.), Thompson (K.W.). — Production of antihormone by prolonged administration of pituitary extract. Effect on anterior hypophysis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 40,* 627-629 (1939).

[67] Simpson (M.E.). — In human pituitary gonadotropins. A. Albert, 123.

[68] Snook (R.B.). — Immunological and biological properties of antiserum to bovine L.H. *Excerpt. Med. Intern. Congr. Pays-Bas, 161,* 398-400 (1969).

[69] Snook (R.B.), Cole (H.H.). — Endogenous gonadotropic activity in mare serum subsequent to chronic treatment with gonadotropin. *Endocrinology, 74,* 52-63 (1964).

[70] Swierczinska (Z.), Samochowiec (E.). — Serological method of detecting chorion gonadotropin as a test for pregnancy. *Pathologia microbiol., 24,* 67 (1961).

[71] Thompson (K.W.). — The augmentatory factor in animal sera after injections of pituitary extracts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 35,* 640-644 (1937).

[72] Tsunekane (T.), Sato (A.). — Traitement des kystes ovariens chez les bovins (Japonais). *J. Jap. Vet. Med. Ass.,* 7, 454-457 (1954).

[73] Twombly (G.H.). — Studies of the nature of antigonadotropic substances. *Endocrinology, 20,* 311-317 (1936).

[74] Van Dyke (H.B.), Wallen Lawrence (Z.). — *J. Pharmacol. and Exp. Therap., 47,* 163 (1933).

[75] Wide (L.). — An immunological method for the assay of human chorionic gonadotropin. *Acta Endocr., 31,* suppl. 70 (1962).

[76] Wide (L.), Gemzell (C.A.). — An immunological pregnancy test. *Acta Endocrinol., 35,* 261-276 (1960).

[77] Wilett (E.L.), Bucner (P.J.), Mac Shan (W.H.). — Refractoriness of cowo repeatedly superovulated with gonadotropins. *J. Dairy Sci., 36,* 1083-1088 (1953).

[78] Yamauchi (M.), Nakahara (T.). — Hormonal control of superovulation in the cow. *Jap. J. Anim. Reprod., 6,* 147-151 (1961). En Japonais, sommaire en Anglais.

[79] Zondek (B.). — *Klin. Wochschr., 9,* 2285 (1930).

[80] Zondek (B.). — Hormone des ovarium und des hypophysenvorderlappens. Julius Spinger, Berlin (1931).

[81] Zondek (B.), Sulman (F.). — « The antigonadotropic factor ». Williams Wilkins (edit.), Baltimore, Maryland (1942).